

## 嗅球におけるノルアドレナリン神経回路の解明 — 単一ニューロン標識による形態学的アプローチ —

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ホリエ サワ 堀江 沙和
所属等	川崎医科大学 医学部 助教
プロフィール	杏林大学大学院 保健学研究科で高見茂教授のもとで博士号を取得しました。その後、岩手医科大学 病態生理学分野（佐原資謹教授）で博士研究員を経て、現職で研究および解剖学の教育に従事しています。“におい” および“フェロモン”に興味を持ち、2つを大きなテーマに解剖学的、時には生理学的アプローチで神経回路や機能の解明を目指して日々研究をしています。

### 1. 研究の概要

においの情報は嗅粘膜の嗅細胞で受容され、1次中枢である嗅球にて処理され、さらに高次中枢へと伝えられる。嗅球では、特異的に存在する出力ニューロンや、抑制性介在ニューロンが嗅覚情報処理に関与している。さらに嗅球には脳の他の領域から遠心性の神経線維が入っていることが知られているがその詳細は明らかにはなっていなかった。

私はこれまで、嗅球内の介在ニューロンにおいて、ドーパミン代謝酵素の局在を調べてきた。そして同じ合成系であるノルアドレナリンをもつ神経線維は嗅球内に見られるものの、ノルアドレナリンを合成する酵素であるドーパミン-β水酸化酵素 (DBH) をもつ細胞の細胞体は嗅球内には存在せず、嗅球内の介在ニューロンとは異なることを報告してきた。

本研究では、これらの成果を発展させ、遠心性に嗅球に入力するノルアドレナリン合成細胞に着目し、以下のことを調べることを目的とした。

- ① ノルアドレナリンをもつ神経線維の起始核から嗅球内に至る経路
- ② 嗅球におけるノルアドレナリンをもつ線維の神経回路の解明

嗅球の構造や情報の出力、調節機構は嗅球外同様にそう構造をもつ大脳皮質にも通じ、さらには中枢神経系の脳の他の領域でも応用が可能であるのが特徴である。よって、本研究の成果は、においの情報処理の理解を深めるだけでなく、中枢性の嗅覚障害の病態生理の解明の糸口ともなることが期待される。

### 2. 研究の動機、目的

においの情報を受け取る1次中枢である嗅球は層構造をなしており、各層には多種多様なニューロンが存在し、複雑な神経回路を形成している。嗅球への入力線維は嗅神経のほかに、遠心性の入力が存在する。遠心性の入力についてはこれまで、セロトニン (5HT)、アセチルコリン (ACh)、ノルアドレナリン作動性線維の起始核および、そこから嗅球へ投射していることは知られていた。しかしながら、それらは1960年代に神経変性によるものや、1980年代にトレーサー (WGA-HRP など) を用いた方法で行われており、起始核における細胞群や線維束としては証明されていたが、投射経路そのものはわかっていなかった。そこで、所属研究室ではこれまで、5HT および ACh ニューロンの起始核から嗅球までの単一ニューロンレベルでの投射経路を明らかにしてきた。しかしながら、ノルアドレナリンについては不明なままであった。

嗅球内にはドーパミン合成酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) を発現している介在ニュー

ロンが多数存在し、ドーパミンの生合成が行われている事がわかっている。さらに、ドーパミン代謝酵素の一つである、芳香族 L-アミノ酸脱炭素酵素 (AADC) の発現が見られることより、ドーパミンの合成が示唆されてきた。一方、ノルアドレナリンの生合成はドーパミンの代謝経路と同様の経路で、TH から合成されるが、さらに解析を進めると、ノルアドレナリンの合成に関与する DBH(+)の細胞体は嗅球内には存在しないことがわかった。そこで、「嗅球での遠心性ノルアドレナリン線維の役割とは何か」、「嗅覚情報処理に対して、どのような調節に関与しているのか?」という問いを立て、本研究ではノルアドレナリン合成細胞に着目し、遠心性ノルアドレナリン細胞の起始核から嗅球に至る経路と嗅球における神経回路を解明することを目的とした。

嗅覚障害には、末梢の感覚器に起因するものと、嗅覚情報処理の場である中枢性のものがある。この中枢性嗅覚障害のうち、ドーパミンの欠乏によるパーキンソン病患者では、70-90%で著しい嗅覚機能障害が起こると言われている。その現象として、嗅覚1次中枢にある傍系球体細胞の TH 陽性細胞が2倍に増えているといわれており、ドーパミン系の神経回路との関連が示唆されている。しかしながら、異臭症に代表されるその他の中枢性の嗅覚障害の場合、臨床では外科的手術、ステロイド薬、漢方薬（当機芍薬散等）の処方が主となるが、病態解明への形態学的アプローチは他にない。

### 3. 研究の結果

#### ① 嗅球に入る遠心性のノルアドレナリン線維の解析

嗅球に入る遠心性のノルアドレナリン線維を明らかにする為に、ウイルスを用いた単一ニューロン標識を行い、その投射経路を明らかにした。方法として、ノルアドレナリン神経線維を特異的に標識するために、DBH-Cre マウスに Cre に特異的に感染するアデノ随伴ウイルスを DBH-Cre マウスの青斑核に注入することで、ノルアドレナリンニューロンを特異的に標識した。その結果、嗅球に投射するノルアドレナリンニューロンは青斑核より始まり、中脳毛様体を通り、黒質線条、視床と視床下部の間を通り、内側前脳束から腹側に下降、嗅索の上方を通過し、嗅球へと至ることがわかった。単一の神経細胞を標識することで、途中の分枝や嗅球内での走行が明らかとなった。

#### ② 嗅球内でのシナプスレベルでのノルアドレナリン線維の解析(電子顕微鏡レベル)

遠心性の線維が嗅球内のどの細胞とどのようなコンタクトをしているのか、電子顕微鏡を用いて微細構造解析を行った。標識されたノルアドレナリン作動性線維の超薄切片を作製し、電子顕微鏡で観察、シナプス構造などを解析した。その結果、ノルアドレナリン作動性線維にバリエーション部分にシナプス結合が見られた。

### 4. これからの展望

本研究において、嗅球内へ入力する遠心性の神経線維の経路および、嗅球内での神経回路の一部が明らかとなった。今後さらに解析を進めることで、神経回路の解明につながると考えられる。さらに、今まで解析してきた遠心性の神経線維の起始核の神経細胞は生理学的にも睡眠などの体内の生理学的なリズムへの関与が示唆されている。今後、生理学的な実験と組み合わせ、生理的条件も加味した嗅覚への影響も研究していきたい。

本研究の発展により、遠心性のノルアドレナリンや他の遠心性線維、嗅球内の細胞との関係が明らかになることで、嗅覚情報の調整機構の基盤構築ができる。ノルアドレナリンをはじめとするドーパミン系ニューロンやアセチルコリンなどによる嗅球内の神経回路を明らかにすることで、中枢より起こる嗅覚障害に対する治療法等の為の一助となると考えている。

### 5. 社会に対するメッセージ

このたびは、若手・女性研究者奨励金を賜り、誠にありがとうございました。関係者の皆様に深く感謝いたします。

私の研究は「嗅球におけるノルアドレナリン神経回路の解明」をテーマに、嗅覚に関わる脳の神経回路の解明に向けて行なっております。今回いただきました奨励金により、電子顕微鏡のための試料薄切に欠かせない、ダイヤモンドナイフを購入することができました。これにより、数十 nm (ナノメートル) という非常に薄い切片を作製でき、電子顕微鏡でシナプスレベルでの微細な構造の解析ができ、重要な所見を得ることができました。これからさらに解析を行い、神経回路の微細な形態を明らかにしていきたいと思っております。

嗅覚は多くの動物にとって、生存や繁殖などの種の維持に関わる重要な感覚です。得られた成果をさらに発展させ、嗅覚情報処理機構の解明、そして臨床応用への足がかりとなることを目指して、今後も研究に取り組んでいきたいと思っております。